# THESES

présentées

A LA FACULTE DES SCIENCES

DE L'UNIVERSITE DE PARIS

Pour obtenir le titre de Docteur de l'Université

(mention sciences)

par

François PATTI

---

1ère THESE : Contribution à l'étude de l'action chimique des rayonnements ionisants sur les substances colorées et fluorescentes.

2ème THESE : Proposition donnée par la Faculté.

Soutenues le 27 NOVEMBRE 1959 devant la Commission d'Examen

MM. WURMSER ) Président
)
HAISSINSKY )
) Examinateurs
MAGAT )

T H E S E S

présentées

A L A F A C U L T E D E S S C I E N C E S

D E L ' U N I V E R S I T E D E P A R I S

Pour obtenir le titre de Docteur de l'Université

(mention sciences)

par

François PATTI

---

1ère THESE : Contribution à l'étude de l'action chimique des rayonnements ionisants sur les substances colorées et fluorescentes.

2ème THESE : Proposition donnée par la Faculté.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Soutenues le 27 NOVEMBRE 1959 devant la Commission d'Examen

| | | |
|---|---|---|
| MM. | WURMSER | Président |
| | HAISSINSKY | Examinateurs |
| | MAGAT | Examinateurs |

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41556009_0026

Ce travail a été effectué au Laboratoire Curie de l'Institut du Radium, dans le Service de M. Bonet-Maury.

J'adresse à la mémoire de M. le Professeur F. Joliot qui m'a accordé la préparation de ce travail, l'hommage de ma respectueuse gratitude.

Que MM. Bonet-Maury et Lederer trouvent ici l'expression de ma reconnaissance pour tous les conseils et l'aide qu'ils m'ont prodiguée. Je remercie également M. Pucheault pour les précieux conseils qu'il m'a généreusement donnés .

Ce travail a été effectué au laboratoire Curie de l'Institut du Radium, dans le Service de M. [illegible].

J'adresse à la mémoire de M. le Professeur F. Joliot qui m'a accordé la [illegible] de ce travail, l'hommage de ma respectueuse gratitude.

Que MM. [illegible] et Lederer trouvent ici l'expression de ma reconnaissance pour tous les conseils et l'aide qu'ils m'ont prodigués. Je remercie également M. [illegible] pour les précieux conseils qu'il m'a généreusement donnés.

# CONTRIBUTION A L'ETUDE DE L'ACTION CHIMIQUE DES RAYONNEMENTS IONISANTS SUR LES SUBSTANCES COLOREES & FLUORESCENTES

## I.- INTRODUCTION

L'eau exposée aux rayonnements ionisants constitue un milieu particulièrement réactif vis-à-vis des substances dissoutes et présente des propriétés oxydo-réductrices, dûes principalement à la présence de radicaux libres H et OH formés par décomposition de l'eau. (1) (36).

Les nombreux travaux publiés montrent la complexité de la plupart des phénomènes chimiques observés et différentes interprétations de ces phénomènes ont été proposées. (2) (6) (7) (14) (28).

En effet, très souvent, lorsque l'on introduit une substance chimique dans l'eau exposée aux radiations ionisantes, il se produit des réactions de nature très différentes et souvent antagonistes : réduction ou oxydation, synthèse ou dégradation, etc...

Le but de ce travail est l'étude des réactions ainsi produites, dans les solutions aqueuses de matières colorantes organiques, avec l'espoir d'apporter une contribution utile à nos connaissances sur les effets chimiques des rayonnements

[illegible]

[illegible]

[illegible]

## I.- INTRODUCTION

L'[illegible] [illegible] [illegible] [illegible] [illegible] (C'I).

[illegible] publiés [illegible] [illegible] ont été [illegible] (C.I.) [illegible].

[illegible] ; réduction ou oxydation, [illegible] ...

[illegible] contribution [illegible]

ionisants sur ce type de solutés.

Un certain nombre de matières colorées ont été irradiées par divers auteurs, sous différentes formes : en solution, incorporées dans des gels (16) d'agar-agar et de gélatine, dans des matières plastiques ou des feuilles de cellophane(29).

Les solutions de matières colorées, irradiées en présence, comme en l'absence d'oxygène, sont décolorées par l'action des rayonnements ionisants, et ce phénomène a été observé sur un certain nombre de colorants appartenant à différents groupes chimiques.

Clark G.L. & Fitch K.R. (9) ont irradié en présence d'oxygène un grand nombre de systèmes colorés et de colorants et comparé la couleur de la solution avant et après l'irradiation ; à cause de leur stabilité chimique et leur facilité de décoloration sous l'effet du rayonnement, ils signalent l'intérêt des dérivés du tryphénylméthane, de l'alizarine, des thiazines .

Stenstrom & Lohmann (63) ont exposé au rayonnement X un certain nombre de matières colorantes parmi lesquelles le bleu de méthylène, violet de gentiane, fuschine, erythrosine, éosine, etc... Le bleu de méthylène a retenu l'attention de ces auteurs et ils remarquent que la courbe représentant le logarithme du pourcentage de colorant restant en fonction de la dose est une droite, c'est-à-dire que la courbe suit une

loi exponentielle. Ils proposent ce colorant comme système de dosage chimique des rayonnements.

Seitz (60) a étudié, en l'absence d'air, l'action des rayons X sur des solutions de matières colorantes parmi lesquelles le bleu de méthylène, le bleu de toluène, et certains dérivés mono-azoïques ; il a montré clairement que la reversibilité de la décoloration observée est partielle, c'est-à-dire qu'après l'irradiation on observe une recoloration de la solution, par réoxydation à l'air ; cette reversibilité n'est pas totale et correspond à une réduction.

Un colorant appartenant au groupe des thiazines, le bleu de méthylène, a été le sujet d'un grand nombre de recherches ; le comportement des solutions aqueuses de cette substance est le suivant : en présence d'oxygène il se décolore de façon irreversible, très certainement par oxydation (9) (11) (55) (63) ; en l'absence d'oxygène il y a également décoloration, mais par réduction, correspondant à la formation de la forme leucodérivée, réoxydable partiellement à l'air, en redonnant le colorant initial. (10) (54) (60) (61).

Collinson (10) a étudié ces phénomènes par spectrophotométrie et a confirmé, qu'en milieu neutre, 40 % de la la décoloration est réversible. Cette quantité décroit avec la dose absorbée ; pour des doses suffisantes on n'a plus d'effet réversible et on aboutit à une décoloration définitive.

Le bleu de méthylène, incorporé dans des gels d'agar-agar a été proposé comme dosimètre chimique tri-dimensionnel par Stein & Day (61). L'intérêt des gels est de pouvoir obtenir des courbes d'isodoses en déterminant, par photométrie, la dose absorbée à chaque niveau. Ces mêmes auteurs ont exposé des échantillons de polyméthylmétacrylate, colorés au Soudan-3 (18). L'exposition aux rayons X produit des bandes d'absorption de longueur d'ondes plus grande que la bande d'absorption du colorant non irradié (approfondissement de la couleur). Day & Stein interprètent ces résultats en admettant que les électrons libérés des réseaux du plastique, par irradiation, sont piégés par le plastique, puis captés par le colorant ; le résultat est la formation d'un système de trous positifs et d'ions négatifs ; il y a compétition entre le colorant et les autres accepteurs d'électrons, tels l'oxygène. Les captures électroniques semblent plus faciles dans les milieux rigides (gels) (17), milieux congelés (62). Il y a une remarquable différence avec les solutions aqueuses où le processus primaire est présumé identique mais est suivi de beaucoup plus près par une réaction secondaire.

L'action des rayonnements ionisants sur les solutions de leuco-fluorescéine a été étudiée par Lefort (37) ; cet auteur attribue aux radicaux OH l'effet d'oxydation observé en présence ou en l'absence d'air ; si l'on prolonge l'irradiation,

la fluorescéine est elle-même oxydée en un produit incolore.

La résazurine en solution aérée vire du bleu au rouge, puis à l'incolore. Ce changement de couleur s'explique par la formation d'oxazone instable, réductible en un colorant rouge, ce dernier ensuite décoloré par oxydation. (57).

Le sel de potassium ou de sodium de l'acide indigo sulfonique a un comportement différent des autres colorants ; la solution n'est décolorée qu'en présence d'air. Mongini & Zimmer, auteurs de ces recherches (47), ont irradié des solutions aqueuses de ce colorant par des rayons gamma du $^{60}Co$ ; ils attribuent au radical $HO_2$ l'effet de décoloration observé ; parmi les produits d'oxydation ils identifient l'acide isatine-5-sulfonique.

Plus récemment, M.C. Anta (3) a étudié l'action des rayons X de 18 kv et des rayons alpha du polonium sur les solutions aqueuses de carmin d'indigo, et pense que les radicaux OH interviennent dans l'effet de décoloration obtenu en présence d'oxygène. Les radicaux OH agiraient d'abord par addition sur le noyau central de la molécule pour former le disulfonate dihydroxy-dihydro-indigo, et une seconde oxydation par le radical $HO_2$ détruirait cette substance, donnant naissance à l'isatine sulfonée.

L'observation faite par Lefort (37) sur l'oxydation probable de la fluorescéine en un produit incolore a retenu

notre attention et nous avons irradié des solutions diluées de ce colorant, en présence et en l'absence d'air ; (50) en l'absence d'air, nous avons constaté une modification de la coloration initiale, et une plus grande résistance du milieu aux rayons X, accompagnée d'une diminution de l'intensité de la fluorescence.

Elargissant cette étude à un colorant du même groupe : l'éosinate de sodium, nous avons, par chromatographie, montré que les modifications de la couleur sont dûes à la formation de nouveaux composés colorés non fluorescents (51) (52).

C'est dans le cadre de ces recherches que nous avons entrepris l'étude systématique de l'action des rayons X et gamma sur un certain nombre de substances colorées, en solutions aqueuses. Le choix de ces substances se justifie :

1°) par le fait que les conséquences de leur exposition aux rayonnements ionisants n'ont été jusqu'ici que peu étudiées, bien que les matières colorantes représentent un groupe chimique important.

2°) parce qu'elles présentent certaines commodités expérimentales :

a) L'observation de leur couleur et la mesure des densités optiques correspondantes permettent de suivre qualitativement et quantitativement les transformations produites par le rayonnement.

b) La séparation par électrophorèse et chromatographie des substances nouvelles est facilitée, car on les localise directement, sans être obligé de recourir à des révélateurs.

c) Certaines substances colorées sont, de plus, fluorescentes, comme l'éosine et l'uranine, ce qui permet d'utiliser une méthode supplémentaire de détection, remarquablement sensible. En effet, la fluorescence est un phénomène particulièrement influencé par de petites modifications de structure chimique de la molécule ; à priori, la fluorescence paraît donc intéressante pour l'étude de l'effet des radiations sur des molécules complexes.

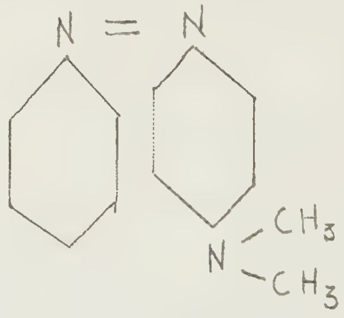
Les colorants étudiés appartiennent à trois groupes chimiques :

a) groupe des azoïques,

b) groupe des phtaleines ou des lactones,

c) groupe des matières colorantes nitrées.

1°) Groupe des azoïques, caractérisé par le groupement chromophore : -N = N- , tel l'hélianthine. Ce colorant est employé comme indicateur de pH (sa zone de virage est comprise entre pH 3,1 (jaune) et pH 4,4 (rouge),

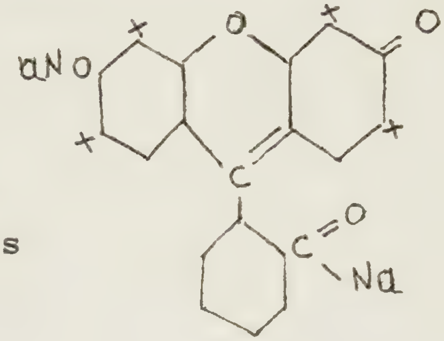


Helianthine

et comme colorant substantif des fibres animales qu'elle teint en orange.

2°) Groupe des phtaleines ou lactones. Les colorants de ce groupe dérivent de l'anhydride phtaliques, tels l'uranine S et l'éosine (qui est le dérivé tétrabromé de la fluorescéine), le pourpre de bromocrésol (dibromoorthocrésol-sulfono-phtaléine). Ces composés sont des indicateurs de pH par coloration ou fluorescence ; les deux premiers sont utilisés dans l'industrie tincteriale pour la coloration de la laine et de la soie.

a) Uranine S. Les solutions sont jaunes avec une intense fluorescence verte. A la lumière du laboratoire elles restent stables pendant plusieurs jours ; on observe, cependant, après 30 jours, une décoloration d'environ 15 % pour une solution de 15 µg/cm3 en milieu sodique N/250 (pH 11,5) ; nous avons choisi ce milieu pour l'étude des effets du rayonnement sur la fluorescence, celle-ci étant plus intense en milieu alcalin.




Uranine S.

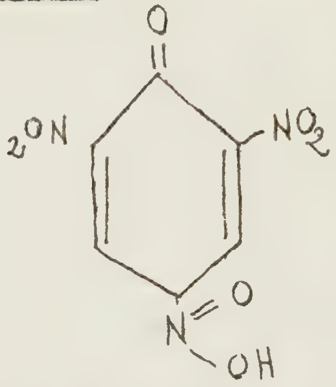
b) Eosinate de sodium. Les croix représentées sur la formule de l'uranine S indiquent la position des atomes de brome dans le cas de l'éosinate de sodium. Ces solutions, aux concentrations que nous avons utilisées, sont orangées avec,

comme pour l'uranine S, une fluorescence verte.

c) Pourpre de bromocrésol. La solution est jaune ; son pH est de 3,05 : sa zone de virage est comprise entre 5,2 (jaune) et 6,8 (violet).

3°) Groupe des matières colorantes nitrées.

Dans ce groupe nous avons étudié l'acide picrique : 2.4.6.trinitrophénol. Il a été longtemps utilisé pour les teintures de fibres animales ; le groupement $NO_2$ est le chromophore ; OH est le groupement auxochrome. Il se présente en poudre jaune microcristalline.



acide picrique

## II.- TECHNIQUES EXPERIMENTALES

I°) Sources de rayonnement.

Rayons X. Nous utilisons un tube, type Holweck, démontable, fonctionnant sous 35 kv. Les solutions sont irradiées dans une petite cuve de quartz de 3 cm de diamètre, sous une épaisseur de 4,3 mm, correspondant à un volume de 3 cm3. Le rayonnement de l'anode de molybdène, filtré par $5,10^{-2}$ mm d'aluminium, comprend la raie $K_\alpha$ du Mo (0,7 Å) et un fond continu assez intense ; l'ensemble correspond à une longueur d'onde efficace moyenne, d'environ 1 Å (rayons X de 14 KeV).

Rayons gamma. Les solutions sont exposées aux rayons gamma émis par 400 millicuries de radium filtrés par 1 mm de platine, et aux rayons gamma de 100 curies de $^{60}Co$ ; avec ce dernier on dispose d'un rayonnement d'énergie mieux définie (1,17 et 1,33 MeV) ; l'installation est reproduite fig. 1. Les tubes contenant 1 cm3 de solution sont irradiés par la base (voir coupe d'un canal d'irradiation fig.1), ce qui permet d'obtenir de fortes intensités.

## DOSIMETRIE DES SOURCES.

La mesure précise de la dose absorbée est indispensable, si l'on veut comparer les effets chimiques obtenus par des rayonnements différents. L'étalonnage de notre tube à rayons X a été effectué au moyen d'une chambre d'ionisation de Taylor ; on a vérifié que la loi de variation de l'intensité en fonction de la distance était respectée ; sous 35 kv, 20 ma, à 10 cm du foyer, le tube donnait un débit d'exposition de 7.000 roentgens-minute.

Nous avons utilisé, d'autre part, une méthode chimique.

Les travaux de Fricke (23) et de Miller (46), sur l'oxydation des ions $Fe^{++}$ en ions $Fe^{+++}$ , montrent l'intérêt de cette réaction pour la dosimétrie ; la valeur de son rendement G, c'est-à-dire le nombre d'ions ferreux en milieu sulfurique 0,8 N, oxydés pour une dose absorbée de 100 ev/cm3, est déterminée avec précision : $G = 15,6 \pm 0,5$ pour les rayons

gamma (30).

Les doses absorbées sont exprimées en électron-volts par cm3. (1 rad ou 100 ergs/gramme correspond à 62,5 $10^{12}$ev/cm3 dans l'eau ; dans nos conditions experimentales 1 roentgen de rayons gamma correspond à 0,84 rad et 1 roentgen de rayons X de 1 Å à 0,44 rad pour les doses d'exposition).

Cottin & Lefort (13), en accord avec ces résultats pour les rayons gamma du $^{60}Co$, trouvent pour les rayons X mous de 1 Å, un G = 14,25.

Pour le dosage, on complexe l'ion $Fe^{+++}$ par une solution de sulfocyanure de potassium. La courbe de densité optique du complexe en fonction du pH montre que celle-ci ne varie pas jusqu'à pH 3, en accord avec le travail de Norman Todd (49). Nous trouvons ainsi, pour les rayons gamma du $^{60}Co$, un débit de dose variant de $0,94.10^{19}$ à $1,10^{19}$ ev/cm3/heure, suivant le canal utilisé. Les courbes de la fig. 2 donnent les débits d'exposition, en fonction du volume irradié.

2°) Préparation des solutions.

L'eau utilisée pour la préparation des solutions est bi-distillée de la façon suivante : elle subit une première déminéralisation sur résine échangeuse d'ions, elle est ensuite distillée en présence de permanganate de potassium et enfin redistillée seule, dans un appareil entièrement en quartz.

Les produits utilisés sont des produits purs pour analyse,

provenant des Etablissements Merck, Eastman-Kodak ou Kuhlmann. Leur pureté a été vérifiée par le service de microanalyse du Laboratoire Municipal de la Ville de Paris.

Les concentrations des solutions irradiées sont :

| | |
|---|---|
| acide picrique : | $4,4\ 10^{-4}$ M |
| | $4,4\ 10^{-3}$ M |
| | $2,2\ 10^{-2}$ M |
| éosine : de ... | $1,5\ 10^{-5}$ M |
| à | $7,2\ 10^{-2}$ M |
| uranine S ..... | $3,4\ 10^{-5}$ M |
| | $6,6\ 10^{-5}$ M |
| | $1,3\ 10^{-4}$ M |
| hélianthine ... | $6,1\ 10^{-5}$ M |
| | $1,5\ 10^{-3}$ M |

## DEGAZAGE DES SOLUTIONS.

a) rayons X. Les solutions destinées à être irradiées sous vide sont dégazées environ 10 minutes à l'aide de l'appareil représenté fig. 3 (6) ; à la fin du dégazage, par suite du refroidissement provoqué par l'évaporation (5 à 6 % du volume initial), la solution se congèle et on la ramène progressivement à la température ambiante avant de l'irradier. On tient compte de l'influence de cette évaporation, sur les concentrations des solutions.

Une bonne agitation est nécessaire pour permettre

l'extraction complète des gaz dissous ; elle est assurée par un agitateur magnétique.

b) rayons gamma. Pour les irradiations par les rayons gamma, nous utilisons des ampoules de verre pyrex, étranglées à l'une des extrémités pour faciliter leur scellement. Le banc de pompage se compose d'une pompe à palette, Edward, type 2S20, donnant un vide limite réel de $10^{-3}$ mm de mercure. Afin d'éviter un dégazage trop brutal de la solution, nous provoquons, à l'aide d'une vis micrométrique, une fuite artificielle, ce qui nous permet de diminuer progressivement la pression. Trois ou quatre congelations successives, à l'aide d'azote liquide, améliorent le dégazage, et la solution est simultanément agitée. Les teneurs en oxydène dissous, après dégazage, sont de l'ordre de 50 µg/litre. Pour le dosage de l'oxygène, nous avons utilisé tout d'abord la méthode de Winckler (68), puis la méthode colorimétrique à l'orthotoluidine (20) plus sensible et permettant de doser des concentrations d'oxygène comprises entre 0,01 et 0,3 mg/litre.

3°) Analyse des solutions irradiées.

a) Photométrie. Les substances colorées sont dosées par colorimétrie à l'aide du photocolorimètre de Bonet-Maury. La fig. 4 montre quelques courbes d'étalonnage pour différents colorants. Ces courbes permettent de déterminer les quantités de colorant restant après l'irradiation, du moins tant que le composé présent en solution est identique au composé

initial, c'est-à-dire tant que le spectre d'absorption de la solution n'est pas modifié par d'autres molécules présentes, à savoir celles produites par l'irradiation.

Cette restriction est d'autant plus nécessaire, en photocolorimétrie, que l'emploi de filtres colorés ne permet pas un filtrage très sélectif de la longueur d'ondes de la lumière transmise ; les filtres utilisés sont généralement des écrans Wratten possédant une bande de transmission assez large, pouvant aller jusqu'à 300 mμ. Dans ces conditions la lumière transmise ne coïncide pas exactement avec la bande d'absorption du corps et si on se trouve en présence de plusieurs composés colorés, il peut être difficile de distinguer les différentes modifications de ces corps, quantitativement et quelques fois même qualitativement.

C'est pourquoi une étude spectrophotométrique, au spectrophotomètre Beckman, plus sélectif, permet de mieux analyser les modifications provoquées par le rayonnement, des solutions telles qu'elles se présentent tout de suite après l'irradiation.

b) Fluorescence. Les solutions d'uranine S et d'éosine, aux concentrations choisies, exposées à la lumière ultraviolette, émettent une intense fluorescence verte. La mesure de leur fluorescence est effectuée à l'aide d'un fluoromètre de notre construction comportant un photomultiplicateur sensible jusqu'à 7.000 Å et un flux excitateur (arc à vapeur de

mercure Philips SP500). Les résultats obtenus à l'aide de cet appareil ont été confirmés par des mesures effectuées sur un appareil du même type, construit au Laboratoire Pasteur de l'Institut du Radium (48), mais comportant un système optique beaucoup plus perfectionné.

c) Séparation des substances colorées en solution, par chromatographie. Les méthodes chromatographiques permettent de caractériser les substances chimiques les plus diverses et il est parfois possible de fractionner un mélange complexe en ses divers constituants. Elles ont l'avantage d'être utilisables dans les cas où l'on ne dispose que de très petites quantités de matière.

Nous avons étudié les séparations chromatographiques des solutions de matières colorées irradiées, sur papier et sur colonne d'alumine. La chromatographie de colorants synthétiques par ces deux méthodes a fait l'objet de plusieurs travaux : sur colonne d'alumine, Saenz-Lascano-Ruiz-&-Collaborateurs, notamment, (59) ont étudié la séparation de divers groupes de colorants employés dans l'industrie alimentaire (azoïque dérivés du Xanthène, du triphénylméthane) ; comme solvants ces auteurs emploient l'eau, l'alcool ou le mélange des deux en proportions variables. Pour la chromatographie sur papier, il faut citer les travaux de Hough & Collaborateurs (31), de M. Lederer (34) (35) sur les

indicateurs de pH et de Zahn (39) et de Fraglen (24) sur différents colorants.

Chromatographie sur papier. Technique. On utilise des bocaux en verre de 50 cm de hauteur et 25 cm de diamètre. Les papiers utilisés sont les suivants : pour des concentrations jusqu'à 100 µg/cm3, le papier Whatmann n° 1 ou Arches n° 302 ; pour des concentrations supérieures le papier Arches n° 310.

Pour obtenir les concentrations ci-dessus , sous un volume de 20 mm3, les solutions irradiées sont évaporées au bain-marie et l'extrait sec est repris par un volume approprié de solvant : solution alcoolique à 25 %. Pour les solutions plus concentrées (5 mg/cm3) le prélèvement se fait directement. L'élévation de la température, pendant l'évaporation, ne modifie pas les résultats de l'analyse.

Choix du solvant. Une dizaine de solvants (tableau I) sont essayés pour analyser les solutions irradiées d'acide picrique, d'éosine et d'hélianthine. Deux d'entre eux donnent des séparations satisfaisantes : les solvants n° 9 et n° 12. Avec ces solvants on effectue de la chromatographie de partage (12) (64), c'est-à-dire que les composés en solution se répartissent sur le chromatogramme d'après leur coefficient de partage entre l'eau et le solvant organique. Les substances plus solubles dans le solvant organique sont plus

facilement entrainées que les substances plus solubles dans l'eau. On opère de la façon suivante : dans une ampoule à décanter on introduit, dans les proportions convenables, les solvants choisis, on agite ; après décantation on sépare la phase aqueuse placée dans le bécher et celui-ci est déposé au fond d'un grand bocal où l'on a préalablement versé la phase organique.

TABLEAU I

| | |
|---|---|
| 1 | eau pure |
| 2 | ammoniaque 0,1 normale |
| 3 | alcool éthylique à 99° |
| 4 | eau-alcool dans les proportions 1/1 |
| 5 | benzène |
| 6 | benzène-alcool éthylique 1/1 |
| 7 | butanol n-chloroforme |
| 8 | butanol n-éther de pétrole |
| 9 | butanol n-ammoniaque 1,5 N |
| 10 | butanol n-acide acétique-eau : 4/1/5 |
| 11 | butanol-benzène-eau |
| 12 | butanol-alcool éthylique-ammoniaque-eau : 200/40/2/88. |

Dans le cas particulier de l'acide picrique, la chromatographie bi-dimensionnelle a permis de complèter les résultats. On développe d'abord dans une direction, avec le solvant n° 9, puis avec un deuxième solvant (solution de chlorure de potassium à 20 %) dans une deuxième direction perpendiculaire à la première.

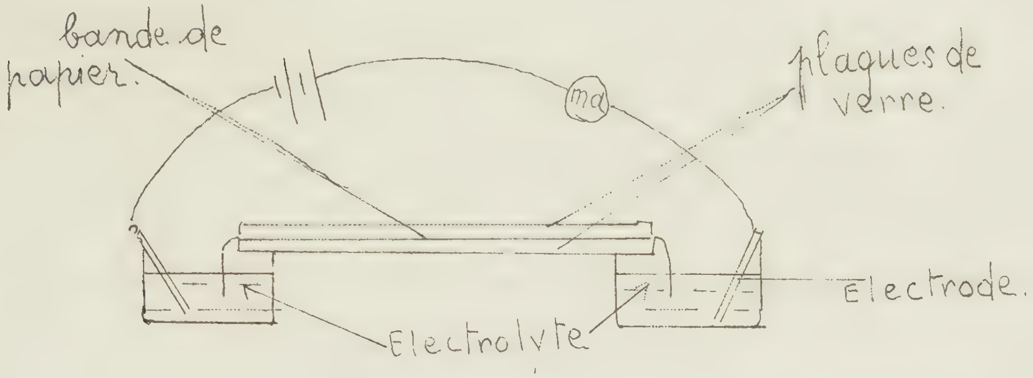
$R_F$ . Cette valeur a été introduite en 1941 par Martin & Synge (44) ; elle est définie comme le rapport entre les distances parcourues par la substance et par le front du solvant : pour un solvant donné, chaque zone est caractérisée par son $R_F$ .

En chromatographie de partage, le $R_F$ dépend directement du coefficient de partage et représente une valeur aussi spécifique que le point d'ébullition ou de fusion d'une substance. Il est possible, d'après les $R_F$, de déterminer la structure chimique d'un composé : Polson (56) a démontré clairement cette possibilité. Nous reviendrons plus en détail sur ce point, lors de l'identification des composés.

Chromatographie sur colonne d'alumine. La technique utilisée est celle donnée par Saenz-Lascano-Riuz & Coll.(59) Nous n'insistons pas sur ces séparations qui ne permettent pas une analyse satisfaisante du mélange formé.

d) Electrophorèse sur papier. Les séparations sont effectuées avec l'appareil représenté à la page suivante,

et déjà utilisé par d'autres auteurs (36).




Pour tous les colorants irradiés, sauf l'éosinate de sodium, l'électrophorèse donne un nombre de bandes colorées moins élevé que la chromatographie. Les électrolytes utilisés sont : acide acétique : 25 %, tampon phosphate pH 7, tampon Durrum pH 8,8, ammoniaque O,I N.

Pour l'éosinate de sodium nous avons obtenu des séparations intéressantes, en ce qui concerne la formation en très faibles quantités de composés fluorescents ; l'électrolyte est celui utilisé par Evans & Walls (22) (solution d'ammoniaque O,I N pH 11,1) qu'ils emploient pour la séparation de colorants bactériologiques. On peut consulter à ce sujet l'ouvrage de M. Lederer (35).

<u>Technique</u>. On dépose 150 µg de substance sous un volume de 0,1 cm3, sur une bande de papier Whatmann n° 31, épais ; la séparation dure 45 minutes sous 220 volts. D'une façon générale, pour les volumes importants, que ce soit par

électrophorèse ou par chromatographie, il faut éviter de donner une trop grande surface à la tache à séparer ; la solution à analyser est déposée à intervalles réguliers et par très petites quantités, en ayant soin d'attendre que la quantité précédente soit sèche (l'évaporation peut être accélérée au moyen d'un courant d'air chaud).

4°) Dosage des peroxydes.

La méthode de Dubouloz, Monge & Fondari (21) permet la détermination de l'indice d'oxygène peroxydique total. Celle utilisant le réactif titanique (5) permet le dosage des quantités d'eau oxygénée formée au cours de l'irradiation.

La méthode de Dubouloz est basée sur l'oxydation de l'acide iodhydrique par l'oxygène peroxydique :

$$2\,IH + \underset{\text{(peroxydique)}}{O} \longrightarrow I_2 + H_2O$$

$I_2$ réagit sur deux molécules de thiofluorescéine réduite (T S H) et donne :

$$\underset{\text{coloré en milieu alcalin}}{2\,TSH} + I_2 \longrightarrow \underset{\text{incolore en milieu alcalin}}{TS - ST} + 2\,IH$$

On a la relation : indice de peroxyde (I.P.)

$$I.P. = \frac{\Delta d}{k\,p} = x$$

Δd représente la variation des densités optiques,

k constante, dépendant de la nature du peroxyde,

p prise d'essai (qui est ici de 0,1 ou de 0,05 cm3, suivant la concentration en peroxydes),

x nombre d'atomes d'oxygènes peroxydiques ou la concentration du peroxyde par cm3 de solution.

Les mesures s'effectuent à 5.900 Å.

La méthode au titane, pour le dosage de l'eau oxygénée, est basée sur la formation d'un complexe coloré jaune et l'intensité de coloration de la solution varie avec la concentration en peroxydes.

La différence des résultats obtenus par ces deux méthodes permet de déceler la présence de peroxydes oragniques.

## III.- EVOLUTION DE LA COULEUR

### 1°) Type des courbes photométriques.

Si l'on compare les courbes : densité optique en fonction de la dose, tracée pour chacun des colorants irradiés, on peut remarquer que l'évolution de la couleur correspond à trois types de courbes (fig. 5, 6, 7, 8).

Courbes du premier type. On observe une augmentation de la couleur, c'est-à-dire de l'absorption dès le début de l'irradiation ; cette coloration passe par un maximum, puis

diminue jusqu'à décoloration totale. C'est le cas de l'éosine, de l'acide picrique, de l'uranine S.

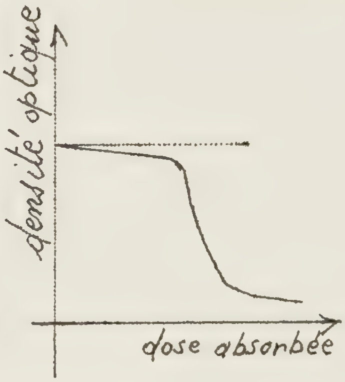
<u>Courbes du deuxième type</u>. Elles se traduisent par une décoloration au début de l'irradiation, suivie d'une recoloration, puis d'une nouvelle décroissance de l'absorption jusqu'à décoloration totale. C'est le cas de l'hélianthine.

<u>Courbes du troisième type</u>. Elles se caractérisent par une décoloration continue, d'abord lente, qui augmente brusquement et qui ralentit de nouveau, pour des doses élevées, avant d'arriver à la décoloration totale. C'est le cas du pourpre de bromocrésol.

<u>TYPE I</u>

<u>TYPE II</u>

<u>TYPE III</u>




Ces trois types de courbes, bien que d'allure différente correspondent à la coexistence de deux phénomènes (coloration-décoloration) dont les importances relatives varient suivant les cas. Ces courbes indiquent l'existence

de composés colorés nouveaux, modifiant l'absorption initiale.

Pour des composés du premier type on peut dire, que, dans la première partie de la courbe, la vitesse de coloration est plus grande que la vitesse de décoloration ; à l'endroit du maximum, la vitesse de coloration est égale à la vitesse de décoloration, et, dans la dernière partie, la vitesse de coloration devient plus petite que la vitesse de décoloration, pour devenir nulle pour les doses élevées.

Pour les composés du deuxième type, dans la première partie de la courbe, la vitesse de coloration est plus petite que la vitesse de décoloration ; elle devient plus grande à l'endroit du maximum, puis ralentit de nouveau progressivement jusqu'à devenir nulle.

Pour les composés du troisième type la vitesse de coloration est toujours plus petite que la vitesse de décoloration.

a) Effet de la concentration initiale sur l'évolution de la couleur. Les différentes courbes photométriques montrent qu'en diminuant la concentration initiale la vitesse d'augmentation de l'absorption lumineuse diminue et s'annule ; pour des concentrations plus faibles, il y a décoloration. Dans tous les cas, il existe donc une concentration initiale limite au-dessus de laquelle on a une augmentation de coloration et au-dessous une décoloration de la solution. Si nous considérons, par exemple, les courbes photométriques de

l'éosine et de l'uranine S (courbes du type I) on remarque, de plus, que le maximum de coloration diminue également avec la vitesse de coloration et la concentration initiale. Si l'on trace les valeurs $\frac{\Delta d}{D}$ de la tangente à l'origine, caractérisant la vitesse initiale de coloration, on obtient les courbes représentées fig. 9 et 10 ; les valeurs négatives correspondent à des vitesses de décoloration.

$\Delta d$ représente la différence entre la densité optique de départ et la densité optique pour une dose choisie comme unité, (D = 1) soit $1.10^{18}$ ev/cm3.

La vitesse de coloration devient nulle pour une certaine valeur de la concentration initiale, dite concentration limite.

$C_L$ . En présence d'oxygène :

- pour l'uranine $C_L$ = 38 µg/cm3.
- pour l'éosine $C_L$ = 25 µg/cm3.

Au-dessous de cette concentration limite les courbes de décoloration suivent une loi simple donnée par Weiss (65)

$$C = C_o e^{-kw} \qquad (I)$$

Si l'on trace la courbe $\log \frac{C}{Co} = kw$ où Co est la concentration initiale, C la concentration restante pour une dose d'exposition w, on obtient une droite représentant une loi

exponentielle. (fig. 11) (43).

Les courbes de décoloration obtenues pour les solutions d'uranine S montrent que k varie avec la concentration initiale ; le tableau ci-dessous indique les valeurs de k pour différentes concentrations.

| Co en $10^{16}$ mol/cm3 | k |
|---|---|
| 0.8 | $0.44.10^{-18}$ |
| 2,4 | $0,28.10^{-18}$ |
| 4 | $0,21.10^{-18}$ |

b) <u>Influence de la nature du corps initial</u>. La concentration à partir de laquelle la loi cinétique établie par Weiss n'est plus vérifiée est variable suivant la nature de la substance irradiée. Ainsi si l'on compare les courbes de la fig. 12 montrant, pour différentes solutions de même concentration, les variations de densité optique en fonction de la dose d'exposition, on remarque un effet de coloration plus durable pour l'acide picrique ; viennent ensuite, dans l'ordre, l'uranine S, l'éosine et l'hélianthine ; il faut cependant être très prudent sur cette notion de coloration, car elle est dûe à un mélange dont l'absorption globale dépend des coefficients d'absorption de chaque constituant

coloré, et il devient difficile de comparer photométriquement le comportement aux rayonnements de tels systèmes chimiques ; une séparation des constituants du mélange est nécessaire et nous reviendrons sur ce point.

2°) Etude des courbes du type I.

Dans ce groupe se trouvent l'éosine, l'uranine S et l'acide picrique. Nous avons étudié plus particulièrement ce groupe pour deux raisons :

a) l'uranine S et l'éosine sont des composés fluorescents et l'étude de la modification de leur fluorescence, après irradiation, s'est révélée intéressante,

b) l'acide picrique est choisi en raison de sa structure chimique plus simple.

Influence de l'oxygène. Les travaux publiés (9) (11) (55) (63) montrent que, souvent, la présence d'oxygène, pendant l'irradiation, dans les solutions de matières colorées, provoque des réactions d'oxydation qui se traduisent par une décoloration de la solution. Nous avons constaté également que l'oxygène favorise la décoloration ; ce fait se traduit par un maximum de densité optique plus faible et une décoloration plus rapide du mélange coloré formé (fig. 13) Réciproquement l'absence d'oxygène favorise la formation des corps colorés et l'effet de coloration apparaît pour des concentrations plus faibles. La concentration limite se trouve

diminuée et passe, en ;'absence d'oxygène, de 38 à 15 µg/cm3, pour l'uranine S et de 25 à 10 µg/cm3 pour l'éosinate de sodium.

De nombreux travaux montrent que, souvent, l'irradiation de produits organiques, en présence d'oxygène, conduit à la formation de peroxydes ou peracides organiques, (39) (41)(42) qui peuvent être responsables des réactions lentes observées après l'irradiation.

C'est pourquoi la présence d'un effet prolongé sur ces substances a été recherchée, mais seule l'éosine a donné des résultats positifs.

A.- Etude de l'effet prolongé.

On constate sur les solutions d'éosine irradiée une augmentation rapide de la couleur, après la fin de l'irradiation, suivie d'une décoloration beaucoup plus lente (fig. 14). Parallèlement à ce phénomène de décoloration, se produit une réapparition de la fluorescence. (fig. 22). Les solutions de ce colorant, irradiées avec des R.X. de 14 KeV, des rayons gamma du radium et du $^{60}$Co, donnent des résultats analogues.

a) Evolution du phénomène lié à la couleur. Il correspond à une augmentation de la densité optique après l'irradiation ; les courbes obtenues montrent que cet effet évolue rapidement pendant les 15 premières minutes, puis ralentit ;

(on obtient un palier) ; il est, quelle que soit la dose absorbée par la solution, pratiquement terminé après 60 minutes. Le tableau II donne les valeurs du maximum de coloration, en pourcentage de la densité optique, à la fin de l'irradiation ($d_o$) en fonction de la dose absorbée.

TABLEAU II

Effet Prolongé de l'éosine

| Dose absorbée pour $IO^{19}$ ev/cm3 | en % de $d_o$ |
|---|---|
| 1,7 | 0 |
| 2,7 | 0,9 |
| 12,8 | 3<br>5 |
| 16,2 | 17<br>17<br>27 |
| 18,4 | 11<br>12<br>28 |
| 39,9 | 11<br>21 |
| 41,2 | 11 |

Comme le montre ce tableau, l'effet prolongé apparaît à 2,7 $IO^{19}$ev/cm3, il augmente ensuite et le maximum peut

représenter jusqu'à 28 % de l'effet à la fin de l'irradiation Après 1 heure 30, la coloration se stabilise puis, lentement, s'amorçe une décoloration, dûe à la disparition des composés formés, que nous suivons par chromatographie. Il ne reste, finalement, que l'éosine non transformée par l'irradiation. (fig. 14).

b) Dosage des peroxydes. Le dosage des peroxydes permet de tracer la courbe (fig. 15) représentant l'indice de peroxyde total en fonction de la dose absorbée. Au point maximum de cette courbe, correspondant à une dose de $16.10^{19}$ ev/cm3, nous évaluons la concentration en eau oxygénée par le réactif titanique, et nous notons les résultats suivants :

Indice de peroxyde total : 1,208

Indice peroxydique d'$H_2O_2$ : 0,404

Par différence on obtient : 0,767, indice de peroxyde organique.

On met donc en évidence la présence de substances peroxydiques, très probablement de nature organique, non complexables par le titane, et qui peuvent être à l'origine de l'effet prolongé.

Recherche d'un effet direct du rayonnement.

Nous avons recherché l'existence d'un effet direct du rayonnement en exposant à de très fortes doses - plusieurs dizaines de millions de roentgens - de l'uranine S,

de l'éosine et de l'acide picrique en poudre ; en l'absence et en présence d'oxygène. Les résultats se sont avérés négatifs. Les solutions aqueuses préparées à partir des poudres irradiées ne montrent aucune variation, ni de couleur, ni de fluorescence, par rapport aux solutions témoins.

3.- Etude spectrophotométrique des solutions.

Si nous traçons les spectres d'absorption obtenus avec le spectrophotomètre de Beckmann, des solutions d'uranine S, d'éosinate de sodium, et d'acide picrique irradiés, et si nous les comparons à une solution témoin pour des longueurs d'onde allant de 2.200 à 8.000 Å, nous constatons :

a) Pour les solutions aqueuses d'uranine S (fig. 16)

Le spectre de la solution non irradiée montre dans l'ultra-violet trois bandes d'absorption : à 2.375 Å, 2.835 Å et 3.250 Å ; dans le visible une bande d'absorption à 4.800 Å. Le spectre de la solution irradiée montre dans l'ultra-violet une absorption moins importante à 2.375 Å, le maximum à 3.250 Å diminue et l'absorption est beaucoup plus importante entre 3.400 et 4.400 Å. Dans le visible l'absorption est plus faible entre 4.400 et 5.500 Å, puis devient plus importante vers les plus grandes longueurs d'ondes.

b) Pour les solutions d'éosinate de sodium (fig. 17)

Le spectre présente, comme pour l'uranine S, trois bandes d'absorption dans l'ultra-violet : à 2.580 Å, à 3.200 Å et

à 3.410 Å. Dans le visible le maximum d'absorption se trouve à 5.150 Å.

Les modifications observées sont de même nature que dans le cas de l'uranine S et l'on remarque un petit décalage de 15 Å, vers les plus grandes longueurs d'ondes de la bande d'absorption.

c) Pour les solutions d'acide picrique (fig. 18)

Le spectre de l'acide picrique présente un maximum d'absorption à 3.550 Å.

En comparant les spectres des solutions irradiées et non irradiées, on constate, comme pour les autres colorants, une diminution de l'absorption à 3.550 Å, et une absorption plus importante vers les longueurs d'ondes plus petites et plus grandes, par rapport au maximum d'absorption.

Pour des concentrations suffisantes, de l'ordre de 100 μg/cm3, on met également en évidence un décalage du maximum vers les plus grandes longueurs d'ondes.

Conclusion.

De la comparaison de ces différents spectres, on peut tirer les conclusions :

1°) La concentration de la substance initiale diminue au cours de l'irradiation.

2°) L'absorption des solutions irradiées est plus

importante vers les plus petites et les plus grandes longueurs d'ondes, par rapport au maximum d'absorption de la solution témoin, dans la partie visible du spectre.

L'importance de ces deux effets est représentée par la différence d'absorption entre les deux courbes.

Pour l'acide picrique le spectre d'absorption des différents constituants colorés formés par irradiation montre que ceux-ci possèdent un spectre décalé vers la droite ou la gauche, par rapport au maximum de la substance initiale.

Nous reviendrons sur ce point lors de l'étude particulière à l'acide picrique.

## IV.- EVOLUTION DE LA FLUORESCENCE

### Théorie quantique de la fluorescente.

La fluorescence correspond à un phénomène de photoluminescence, c'est-à-dire qu'il est provoqué par l'action de la lumière visible ou ultra-violette. On peut dire qu'il y a fluorescence lorsque la transformation quantique d'émission qui suit l'excitation peut se produire spontanément sans emprunter d'énergie au milieu. Dans le cas contraire, il y a phosphorescence.

Lorsque un système électronique moléculaire passe d'un état à un autre par absorption ou émission de lumière, la

fréquence $\nu$ de cette lumière est proportionnelle à la variation d'énergie interne de la molécule. $\nu = \frac{\Delta E}{h}$

Lors de l'absorption on peut envisager que la molécule se trouve dans un état excité ; le retour à l'état normal peut s'effectuer de différentes façons, suivant les cas.

Dans le cas le plus simple des gaz et vapeurs monoatomiques, il peut y avoir désactivation par résonance ; dans ce cas l'atome, par l'absorption de lumière, est amené dans un état excité (B) tel que les transitions intermédiaires sont impossibles. Les deux transformations d'absorption et d'émission sont alors rigoureusement inverses et l'atome dans son retour vers l'état normal (A) émettra exactement la radiation qu'il avait absorbée, et celle-là seulement. (Schéma I).

Les fluorescences avec changement de fréquence, observées avec les gaz et vapeurs diatomiques sont généralement expliquées conformément à la théorie quantique, par le schéma II.

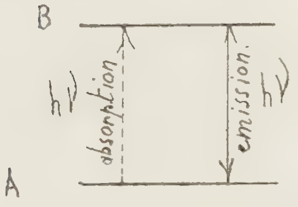
Il faut considérer que l'absorption et l'émission sont toujours liées à des transitions entre des états électroniques fondamentaux A et B, mais à chacun de ces états correspond une double infinité de niveaux énergétiques, et on remarque que la fréquence de la lumière émise est plus petite que celle de la lumière excitatrice : $h\nu > h\nu'$ (règle de Stockes).

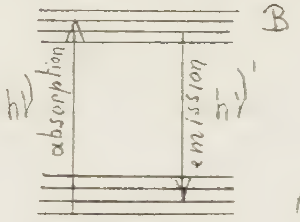
Pour les solutions, il faut considérer que chacun des états normal (A) et excité (B) ne forment plus une suite

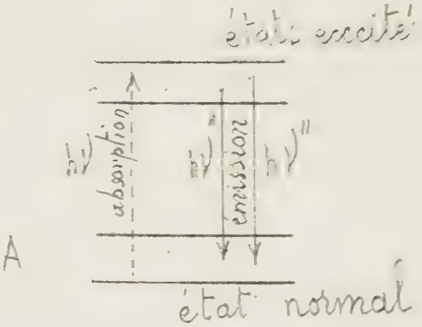
discontinue, par suite de l'interaction avec les molécules du solvant.

Les états d'oscillations des atomes dans la molécule et de rotation de la molécule ne sont plus nettement quantifiés. On n'observe plus de bandes d'émission étroites, mais larges et diffuses (plusieurs centaines d'Å).

Les nombreux chocs avec les molécules du solvant expliquent que la bande d'émission ne dépend pas d'une longueur d'ondes particulière de la bande d'excitation ; la répartition des états excités B utilisés lors de l'émission ne dépend pas du niveau atteint dans B lors de l'excitation. La fig. 23 montre le spectre d'absorption et d'émission d'une solution aqueuse d'éosinate de sodium ; la bande d'émission se trouve décalée, par rapport à la bande d'absorption, vers les plus grandes longueurs d'ondes (200 Å).




SCHEMA I — cas de résonance

SCHEMA II — cas des gaz et vapeurs diatomiques

SCHEMA III — cas des solutions

En ce qui concerne les matières colorantes, on a naturellement cherché à lier la présence de fluorescence à celle de certains groupements d'atomes de la molécule.

Le caractère chromophore, qui s'explique par la présence dans la molécule de groupements non saturés, renfermant les électrons $\pi$ facilement excitables, qui conditionnent les fortes absorptions et semble devoir faire apparaître la fluorescence. Pour S.Stark l'émission et l'absorption proviendraient du même groupement. Pour F.Meyer et K.Kaufmann un fluorophore serait le siège de l'émission de l'énergie lumineuse absorbée par le chromophore.

Extinction de la fluorescence.

Une diminution du pouvoir fluorescent d'une solution peut être observée dans de nombreuses circonstances. Parmi les principaux facteurs, il faut envisager : a) la concentration de la substance fluorescente ; b) la nature et la concentration de substances étrangères ajoutées à la solution fluorescente ; c) la nature du solvant.

a) concentration de la substance fluorescente.

L'extinction peut s'expliquer par induction moléculaire ; pour une molécule excitée la probabilité de désactivation, sans émission, augmente avec le nombre de molécules voisines, de même espèce, à l'état normal. Il y a donc désactivation par transfert d'activité entre deux molécules de même nature.

b) addition de substances diverses.

Un phénomène de résonance peut s'établir entre deux molécules, chimiquement non identiques. Il suffit que leurs bandes d'absorption soient voisines. Certaines substances, incolores, peuvent aussi diminuer le pouvoir fluorescent, bien qu'elles ne possèdent pas de fréquence d'absorption voisine de celle du corps fluorescent ; leur caractère commun est d'être facilement oxydable , c'est-à-dire de perdre aisément un électron : ce sont des antioxydants. Il y a dans ce cas désactivation par induction forcée ; de nombreux travaux se rapportent à ce sujet. (33) (53) (8). Tous ces corps agissent sans que la molécule fluorescente soit modifiée chimiquement.

c) le solvant.

La nature, la viscosité et la température du solvant ont également une influence sur la fluorescence.

Résultats.

Pour la fluorescence nous observons également une influence de la concentration initiale sur la loi de variation du pouvoir fluorescent, en fonction de la dose d'exposition.

Si l'on irradie, en présence d'air, des solutions diluées d'uranine S, à 15 µg/cm3, on remarque que le pouvoir fluorescent (1) de la solution varie en fonction de la dose absorbée,

---

(1) $\phi$ : représente l'intensité de la fluorescence de la solution pour une concentration déterminée, pour une épaisseur et une longueur d'onde excitatrice invariable.

selon une loi exponentielle analogue à celle suivie par la décoloration de cette même substance, dans les mêmes conditions. (Equation I, page 24).

$$\emptyset = \emptyset_o \, e^{-lw} \qquad \text{(II)}$$

Dans ce cas le pouvoir fluorescent de la solution irradiée dépend uniquement de la concentration restante en substance fluorescente initiale. Nous avons vérifié, qu'effectivement, l'intensité de fluorescence est une fonction exponentielle de la concentration. Le spectre de fluorescence n'est pas, qualitativement, modifié par l'irradiation.

Si l'on irradie ces mêmes solutions d'uranine S, mais en l'absence d'oxygène, la loi de disparition de la fluorescence, en fonction de la dose absorbée par la solution, n'est plus représentée par une exponentielle mais par la somme de deux exponentielles (fig. 19). On a la relation :

$$\emptyset = \emptyset_o \, (e^{-m} + e^{-n}) \qquad \text{(III)}$$

$\emptyset_o$ représente le pouvoir fluorescent avant irradiation,

$\emptyset$ le pouvoir fluorescent restant, après une dose $w$,

$w$ la dose absorbée par la solution.

Les valeurs de m et de n, dans ce cas, sont :

$$m = 0{,}054 \; 10^{-18}$$

$$n = 0{,}009 \; 10^{-18}$$

Il semble donc que les composés colorés formés interviennent dans l'inhibition de la fluorescence des solutions. En effet, 15 µg/cm3 représente pour les solutions d'uranine S irradiées en l'absence d'oxygène, la concentration limite, concentration à partir de laquelle l'effet de coloration devient notable.

Pour confirmer cette hypothèse, nous irradions des solutions concentrées d'éosine à 1 mg/cm3, en présence d'oxygène. Pour cette concentration l'effet de coloration est très important. Les résultats obtenus sont analogues à ceux de l'uranine S et obéissent aussi à l'équation III (fig. 20).

Si l'on compare les deux courbes représentant, l'une les variations de la coloration et, l'autre, la variation du pouvoir fluorescent, on remarque qu'il y a une certaine relation entre ces deux phénomènes (fig. 21).

Entre 0 et $8.10^{19}$ ev/cm3, la diminution du pouvoir fluorescent de la solution irradiée est rapide. Pour une dose absorbée de $8.10^{19}$ ev/cm3 elle représente 85 % de la fluorescence initiale, pour une coloration maximum de la solution. Au-delà de cette dose la variation du pouvoir fluorescent de la solution irradiée se poursuit au fur et à mesure de la décoloration.

Effet prolongé

Il se traduit par une augmentation lente de la

fluorescence de la solution, en même temps que se produit une décoloration, provoquée par la disparition des composés formés. La fig. 22 montre que pour $4.10^{19}$ ev/cm3 il ne reste que 25 % de la fluorescence initiale ; après 200 heures ce pouvoir fluorescent a doublé, c'est-à-dire que la fluorescence émise représente 50 % de la fluorescence avant l'irradiation. Avec une dose absorbée égale à $16.10^{19}$ ev/cm3 l'effet prolongé est moins marqué, car à cette dose la décoloration est déjà importante et les concentrations de l'éosine restante et des composés colorés sont faibles. La réapparition de la fluorescence n'est pas totale ; pour $4.10^{19}$ ev/cm3 on note une baisse définitive de 50 %. Cette diminution du pouvoir fluorescent est dûe à la destruction et à la transformation chimique de l'éosine. Les courbes de la fig. 22 permettent d'ailleurs d'évaluer l'importance de la variation du pouvoir fluorescent dû à la désactivation physique et à l'action chimique du rayonnement.

En ce qui concerne la présente étude, dans le cas des solutions diluées, la diminution du pouvoir fluorescent semble dûe à la destruction moléculaire ; les groupements chromophores seraient détruits et la molécule perdrait ses propriétés de réémission.

Dans le cas des solutions concentrées, on peut admettre que certains composés colorés, présents en solution, possèdent

un pouvoir désactivant, vis-à-vis des molécules fluorescentes d'éosine ou d'uranine S. L'équation III peut s'interpréter en admettant deux effets inhibiteurs :

1°) un effet chimique correspondant à une diminution de la concentration en éosine, par disparition et transformation chimique au cours de l'irradiation,

2°) un effet physique dû au pouvoir désactivant d'un des composés colorés, sur l'éosine restant en solution. On peut envisager une désactivation par induction sélective. La fig. 21 montre que la concentration en produit coloré augmente jusqu'à une dose absorbée de $7,5.10^{19}$ ev/cm³, dose correspondant à la fin de la première exponentielle ; il est logique de penser que l'effet physique va croissant jusqu'à cette dose; puis la deuxième exponentielle représente l'affaiblissement du pouvoir fluorescent, par la destruction du mélange : éosine-produits colorés ; cette variation est notablement plus lente que la précédente. L'effet physique inhibiteur suit une loi exponentielle.

$$I = Io \; e^{-hs} \qquad (IV)$$

I et Io : intensité en présence et en l'absence d'inhibiteur,

s : la concentration d'inhibiteur

h : dépend de la nature et de l'état du solvant.

On peut admettre que la quantité de substance inhibitrice produite est proportionnelle à la dose : s = kw.

Nous pensons que la désactivation observée peut se faire par induction sélective entre deux composés possédant des bandes d'absorption voisines. Les faits expérimentaux en faveur de cette hypothèse sont :

1°) Les quantités d'éosine non transformée, avant et après l'effet prolongé sont les mêmes.

2°) La relation qui existe entre la perte du pouvoir fluorescent de la solution et la formation de composés colorés formés (fig. 21).

3°) L'effet prolongé, correspondant à un effet inverse du 2°) : le pouvoir fluorescent de la solution irradiée augmente avec sa décoloration (fig. 22).

4°) L'étude spectrophotométrique montre que les spectres d'absorption des corps formés sont voisins de celui de la molécule initiale.

## V.- SEPARATIONS

Les séparations chromatographiques permettent de confirmer ces résultats spectrophotométriques en précisant le nombre de composés formés pendant l'irradiation ; la technique chromatographique donne de meilleurs résultats que l'électrophorèse, car nous obtenons toujours un nombre de zones supérieur. Ainsi, les séparations à partir de solutions

d'éosine irradiée, montrent par électrophorèse la présence d'un seul composé rouge-violacé (fig. 24), mais la chromatographie précise que ce composé est en fait un mélange.

Résultats de la chromatographie.

Le tableau III donne la valeur des $R_F$ trouvés avec le solvant n° 9 pour l'acide picrique, l'hélianthine et le bleu de bromophénol et avec le solvant n° 11 pour l'éosine.

Il faut noter que dans tous les cas la concentration du composé n° 1 ($R_F$ = 0) est encore importante alors que les autres composés ont presque totalement disparus.

Nous retrouvons le même nombre de zones que les irradiations soient faites en présence ou en l'absence d'air.

Par la chromatographie nous étudions également le post-effet lié à la fluorescence ; en effet, nous avons précédemment vu qu'avec la disparition des composés formés, le pouvoir fluorescent des solutions irradiées augmente.

Les chromatogrammes effectués avant et après le post-effet ont permis de doser l'éosine restante et de montrer que les concentrations sont les mêmes - ce qui confirme que l'inhibition est dûe à l'effet physique. Ces chromatogrammes ont précisé que parmi les quatres nouveaux composés isolés un seul semble responsable de l'inhibition de fluorescence ; il s'agit du composé n° 3 $R_F$ = 0,10, qui paraît être un produit principal de l'irradiation. Ce composé a complètement

disparu alors que les autres sont encore présents dans la solution.

TABLEAU III

| colorants | nombre de zones séparées | solution irradiée $R_F$ | solution témoin $R_F$ | nombre de composés formés |
|---|---|---|---|---|
| acide picrique | 1<br>2<br>3<br>4<br>5 | 0<br>0,13<br>0,20<br>0,40<br>0,64 | 0,63 | 4 |
| éosine | 1<br>2<br>3<br>4<br>5 | 0,01<br>0,07<br>0,19<br>0,38<br>0,39 | 0,37 | 4 |
| hélianthine | 1<br>2<br>3<br>4<br>5<br>6 | 0<br>0,16<br>0,22<br>0,30<br>0,39<br>0,50 | 0,47 | 5 |
| bleu de bromophénol | 1<br>2<br>3 | 0<br>0,20<br>0,65 | 0,64 | 2 |

Résultats d'électrophorèse.

Les séparations faites à partir de solutions d'éosine irradiée se révèlent intéressantes car elles permettent de localiser de nouvelles substances, également fluorescentes. La fig. 24 représente la photographie en lumière ultra-violette de séparations d'électrophorèse pour différentes doses de rayons X. Elle met en évidence la présence d'un composé qui se forme en quantité relativement importante et qui est lui-même un mélange séparable par chromatographie ; ce corps de teinte rouge violacé n'est pas fluorescent et ne migre pas dans les conditions choisies ; on observe qu'il reste de l'éosine et la formation en petites quantités des trois composés, décelables par leur fluorescence à la lumière de Wood, l'un de ces composés émet une fluorescence bleu clair.

Conclusion.

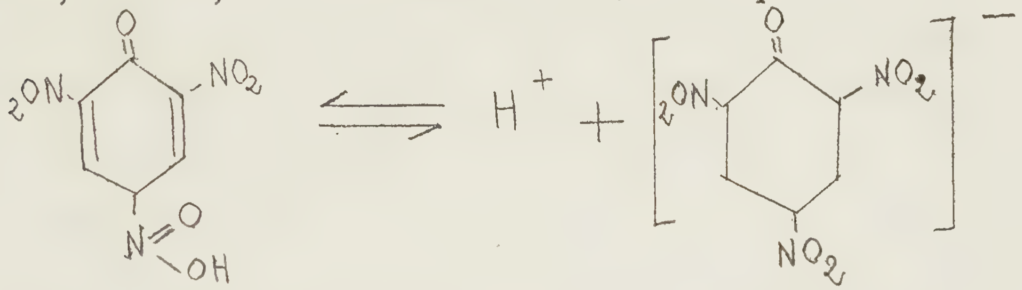
Ces séparations permettent de voir que les solutions irradiées constituent un mélange contenant jusqu'à cinq nouveaux composés colorés ; de plus, dans le cas de l'éosine, il se forme en très petites quantités, des composés fluorescents. Les modifications optiques observées dépendent donc de la nature de ces composés et de leur stabilité chimique vis-à-vis du rayonnement.

Pour mieux comprendre les réactions en cause, il y a

intérêt à employer des colorants de structure chimique simple. Nous avons pensé que l'acide picrique représente un colorant intéressant dans cet ordre d'idée, et c'est pourquoi nous nous sommes proposés d'étudier plus particulièrement, sur des solutions de ce composé, la nature des modifications chimiques produites par le rayonnement.

## VI.- ETUDE DE L'ACIDE PICRIQUE

L'acide picrique est un acide fortement ionisé en solutions aqueuses ; sa constante de dissociation est à 18°C. $K = 1,6\ IO^{-1}$ ; il se dissocie suivant l'équation :



Sur les solutions de ce colorant nous avons étudié tout d'abord les variations du pH en fonction de la dose d'irradiation ; nous traçons les valeurs suivantes pour une concentration de 1 mg/cm3.

| dose $10^{19}$ ev/cm3 | pH |
|---|---|
| 0 | 2,4 |
| 8,5 | 2,6 |
| 11 | 2,4 |
| 26 | 2,25 |

Les mesures du pH sont effectuées à l'aide du pHmètre Tacussel, en utilisant la microélectrode de 0,3 cm3.

Après irradiation avec 8,5 $10^{19}$ ev/cm3 (dose correspondant à l'intensité maximum de coloration) la solution accuse une légère augmentation du pH ; avec 26.$10^{19}$ev/cm3 elle est complètement décolorée et légèrement acidifiée.

A.- Etude des séparations.

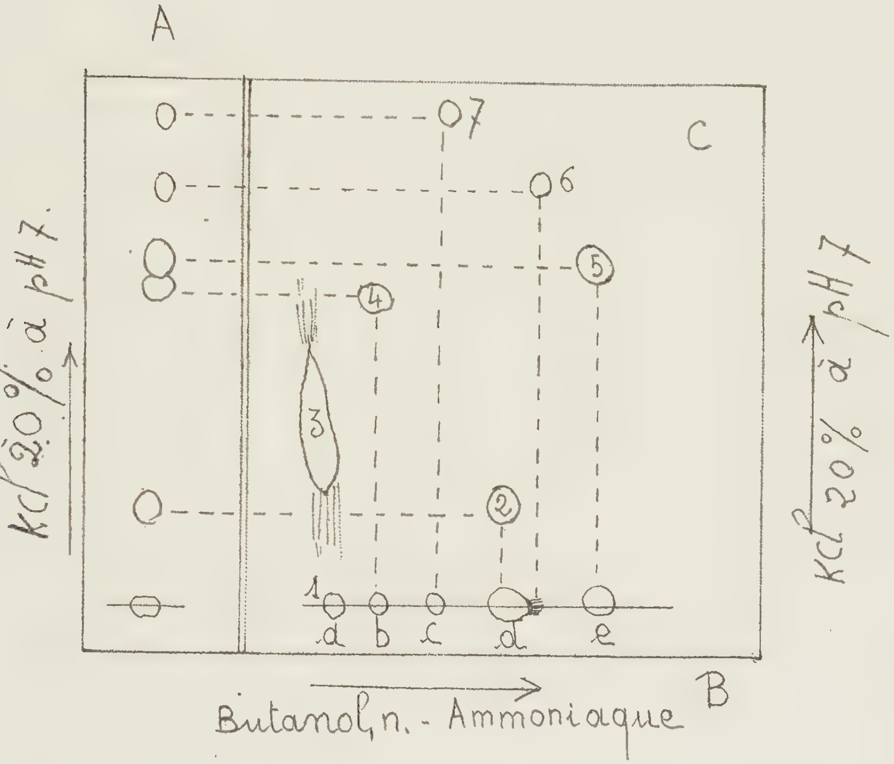
1°) Techniques. Des séparations chromatographiques sur papier à l'aide d'une solution de chlorure de potassium à 20 % tamponée à pH 7 (tampon phosphate) permettent une analyse plus précise des solutions irradiées. Nous isolons cinq composés au lieu de quatre obtenus avec le solvant butanol n-ammoniaque 1,5 N. Il est toutefois important de savoir s'il n'y a pas une transformation chimique d'un des composés présents par l'ion phosphate ou par l'action du pH. La chromatographie bi-dimensionnelle permet de préciser ce point. D'après la position des zones colorées sur le chromatogramme, il est possible d'écarter l'hypothèse de transformation chimique, car, dans ce cas, on obtiendrait deux composés sur une même droite, ce qui n'est pas le cas.

2°) Résultats. A la page suivante, schéma des trois chromatogrammes réalisés dans les conditions ci-dessous :

1) chlorure de potassium à 20 %, pH 7 ; chromatogramme A

2) solvant butanol-ammoniaque 1,5 N ; chromatogramme B

3) combinaison des deux, en chromatographie bi-dimensionnelle chromatogramme C.




Le chromatogramme C met en évidence la formation de 6 nouveaux composés colorés ; le composé de $R_F$ = 0,66 se trouvait sur le front de la zone d du chromatogramme B ; le composé de $R_F$ = 0,49, de couleur rouge, correspond au composé b , de couleur violette, sur le chromatogramme B ; comme nous allons le voir, il modifie sa couleur avec le pH.

Le tableau IV donne le nombre de composés séparés, le $R_F$ et leur couleur pour la chromatographie bi-dimensionnelle.

TABLEAU IV

| Nombre de composés | $R_F$ dans Kcl pH 7 20 % | couleur et observation |
|---|---|---|
| I | 0 | rose-brun |
| 2 | 0,34 | bistre |
| 3 | zone mal définie | brun-clair |
| 4 | 0,49 | rouge |
| 5 | 0,55 | jaune (acide picrique) |
| 6 | 0,66 | jaune |
| 7 | 0,75 | jaune |

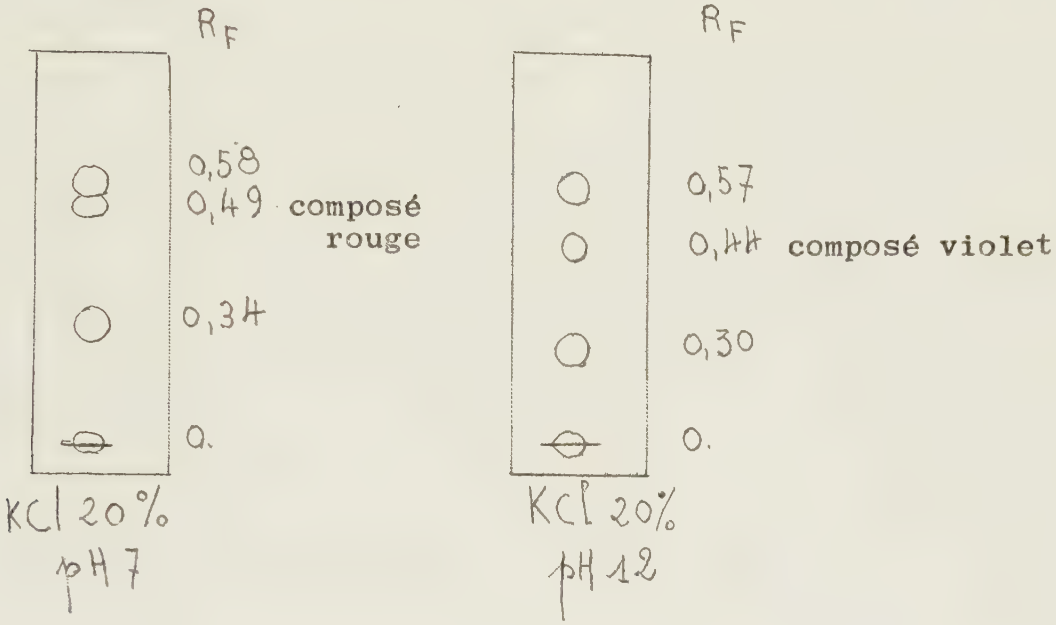
B.- Influence du pH.

Les solutions d'acide picrique irradiées en présence comme en l'absence d'oxygène, ont une coloration plus orangée, par rapport à la solution témoin. La couleur des solutions irradiées est profondément modifiée par l'influence du pH : si par addition de soude $\frac{N}{10}$ on porte le pH de la solution de 2,6 à 7, elle devient rouge ; à pH 12 elle devient violette ; ces colorations sont instables et disparaissent après quelques heures. Ces modifications de la couleur laissent supposer la formation de nouveaux composés, produits d'irradiation ; par chromatographie, à l'aide d'une solution de chlorure de potassium à 20 %, tamponnée à pH 7 et pH 12,

nous avons isolé :

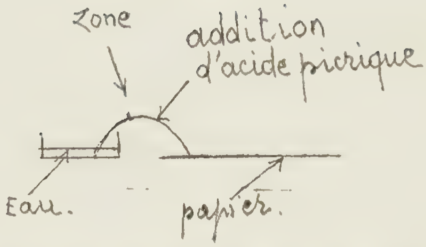
- à pH 7 un nouveau composé rouge et
- à pH 12 un nouveau composé violet.

Les séparations obtenues sont représentées ci-dessous :




Nous avons recherché ensuite quels étaient les composés responsables de ces modifications, et pour cela nous avons vaporisé des solutions de pH définis (solution de soude diluée, solution d'acide sulfurique diluée, solutions tampons) sur les différentes zones obtenues après séparation des composés colorés présents dans les solutions d'acide picrique irradiées. Deux zones ont été retenues ; leur $R_F$ = 0,13 et 0,4 dans les séparations obtenues avec le solvant butanol-ammoniaque. (Tableau III) Ces deux zones sont découpées

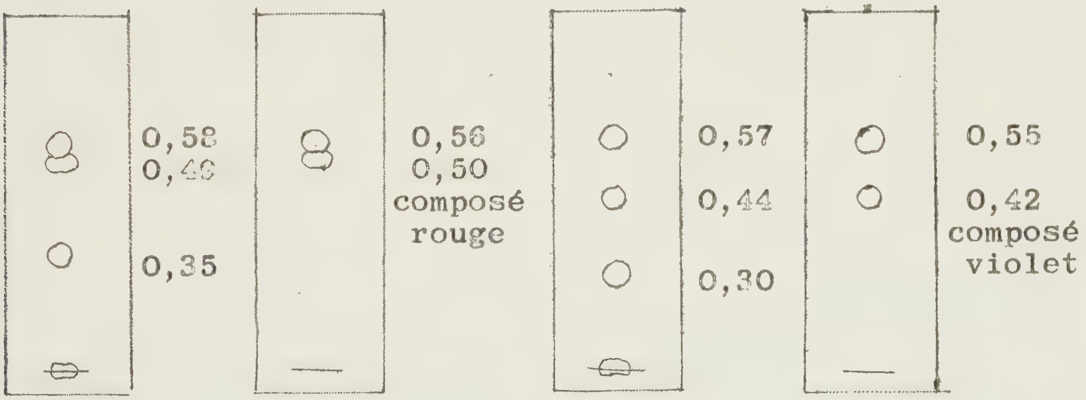
et transférées sur une nouvelle feuille de papier chromatographique, suivant le schéma ci-contre. Pendant le transfert, on ajoute quelques gouttes d'une




solution d'acide picrique. Nous développons ensuite dans une solution de KCl à pH 7 et 12. D'après la valeur des $R_F$ on peut conclure que c'est le composé de $R_F = 0,13$ qui peut exister sous trois formes colorées et être responsable des changements de couleur observés pour les solutions irradiées

| milieu acide | milieu neutre | milieu basique |
|---|---|---|
| jaune | rouge | violet (instable) |

Ci-dessous les schémas des séparations :




KCl 20 % à pH 7 — KCl 20 % à pH 12

solution irradiée — composé $R_F = 0,13$ — solution irradiée — composé $R_F$ 0,13

Quant au composé $R_F$ = 0,4 (jaune) il vire uniquement à pH 12 et devient mauve. Sa transformation est partielle, c'est-à-dire qu'il se divise en deux zones sur le chromatogramme. La zone mauve donne un $R_F$ = 0,57 et redevient jaune au contact de l'air ; l'autre zone (jaune) représente le composé initial non transformé.

Conclusion.

Nous mettons ainsi en évidence l'existence de deux composés susceptibles de se présenter sous différentes formes colorées, en fonction du pH.

C.- Disparition de l'acide picrique.

Les produits colorés formés ne rendent plus possible, par mesure colorimétrique directe, le dosage des quantités de la substance initiale non transformée. Ce dosage ne devient possible, comme celui d'ailleurs des autres composés, qu'après séparation.

Pour la détermination, en présence d'oxygène, du rendement initial de disparition de l'acide picrique $G_{i\ (D)}$, en fonction de la concentration initiale, on effectue un chromatogramme étalon avec des quantités connues de substance ; la tache à doser est dissoute dans 5 ou 10 cm3 de solution tampon à pH 7 ; on centrifuge pendant 5 minutes à 4.000 tours, puis on mesure la densité optique ; on établit ainsi une courbe de référence,

ayant pour ordonnées les concentrations en microgrammes par cm3, et en abscisses les densités optiques. Les quantités d'acide picrique transformées par le rayonnement sont déterminées par différence.

Les valeurs du rendement initial de disparition $G_{i\ (D)}$ c'est-à-dire la quantité d'acide picrique disparue pour une dose absorbée de 100 ev/cm3, au début de l'irradiation, donnée par la tangente à l'origine, en fonction de la concentration en acide picrique, sont représentées fig. 25.

Le $G_{i\ (D)}$ augmente d'abord rapidement, jusqu'à une concentration de $4.10^{-4}$M, concentration à partir de laquelle il tend vers une valeur constante $\simeq$ 2,15.

Cette variation, fréquemment observée, s'explique par la compétition entre les réactions du corps dissous avec les radicaux libres, et celles des radicaux libres entre eux. (15) (25).

Divers auteurs observent sur des solutions diluées de nitrobenzène (67), chlorobenzène (45), une oxydation correspondant à la fixation d'un radical OH sur le noyau benzénique, et, à côté de cette hydroxylation existe une dénitrification ou une déchloruration, suivant la réaction :

$$C_6H_5Cl + OH \longrightarrow C_6H_5 + HOCl$$

Dans cet ordre d'idées, nous avons recherché, dans les solutions irradiées d'acide picrique, la présence d'ions $NO_2$-

libérés de la molécule d'acide picrique, en cours d'irradiation. Nous les avons dosés par la méthode colorimétrique de Griess (27) et obtenons en présence d'air un $G_{i\ (NO_2^-)}$ de l'ordre de 2,15. Une courbe de référence pour ce dosage est tracée à partir de solutions titrées de nitrite de sodium dissous dans une solution d'acide picrique à 100 µg/cm3. Les irradiations sont effectuées par les rayons gamma du $^{60}Co$.

On remarque que le $G_{i\ (D)}$ de l'acide picrique et le $G_{i\ (NO_2^-)}$ sont du même ordre ; les courbes représentées fig. 26 montrent d'une part la disparition de l'acide picrique et la formation de $NO_2^-$, en fonction de la dose d'exposition. Le $G_{i\ (NO_2^-)}$ est constant jusqu'à environ $10^{19}$ ev/cm3, dose pour laquelle 60 % de l'acide picrique disparait ; puis, brusquement le rendement baisse ; on doit donc supposer que les ions $NO_2^-$ réagissent avec un composé intermédiaire quelconque.

Les courbes (fig.13) représentant l'influence de l'oxygène dissous sur l'effet de coloration, montrent que l'oxygène favorise la décoloration de la solution ; cette décoloration peut être attribuée au radical $HO_2$ ; en effet, en l'absence d'oxygène on a essentiellement les radicaux primaires H et OH.

Pour déterminer avec plus de précision l'influence du radical $HO_2$ nous avons ajouté aux solutions d'acide picrique, avant l'irradiation, de l'eau oxygénée à une concentration

relativement importante : $10^{-3}$M. La comparaison des résultats avec et sans eau oxygénée, indique un comportement semblable des solutions irradiées. L'action nulle observée laisse supposer : soit que la réaction :

$$OH + H_2O_2 \longrightarrow HO_2 + H_2O$$

ne peut avoir lieu, le soluté captant tous les OH, ou, si elle a lieu, que le radical $HO_2$ agit comme un OH, la différence de coloration provenant alors de la disparition de radicaux H.

Nous avons étudié l'influence de l'hydrogène moléculaire au cours de l'irradiation. Pour cela, et pendant toute la durée de l'irradiation, nous avons fait barboter de l'hydrogène, après avoir éliminé l'oxygène dissous des solutions à irradier.

Les chromatogrammes ont permis de déterminer que seulement deux des composés formés : $R_F$ = 0,34 et $R_F$ = 0,49 (solvant : solution de chlorure de potassium à 20 %, pH 7), se trouvent à des concentrations plus importantes par rapport à la solution irradiée dégazée.

On peut supposer que ces deux composés sont formés par les radicaux H puisque dans ces conditions nous avons la réaction :

$$H_2 + OH \longrightarrow H + H_2O$$

D.- Etude des composés colorés formés.

Après séparations chromatographiques des composés colorés présents dans la solution irradiée, nous avons tracé le spectre d'absorption de ceux se trouvant à une concentration suffisante. Pour cela les différentes zones colorées sont découpées et extraites par dissolution dans quelques cm3 d'eau ; on centrifuge quelques minutes pour éliminer les impuretés laisées par le papier, puis, au spectrophotomètre de Beckmann, on effectue des mesures de densité optique de 2.300 à 6.000 Å.

Les spectres représentées sur la fig. 27 montrent les maxima d'absorption indiqués tableau V.

TABLEAU V

| Composé | maxima d'absorption en mμ | |
|---|---|---|
| Acide picrique | 355 | |
| Composé n° 2 | 290<br>385 | approfondissement de la coloration initiale. |
| Composé n° 4 | 480 | |
| Composé n° 7 | 380 | |
| Composé n° 3 | 345 | éclaircissement de la coloration initiale. |

La concentration totale des composés n° 2, 4, 7 est probablement supérieure à la concentration du composé n° 3, ce qui explique que le spectre d'absorption de la solution irradiée se trouve déplacé vers les plus grandes longueurs d'ondes.

## VI.- ESSAIS D'IDENTIFICATION

Il est clair que l'explication du mécanisme de la radiolyse nécessite préalablement une connaissance exacte des corps formés ; nous n'avons pas réussi à identifier ces corps par les méthodes classiques de la chimie organique parce que les composés formés sont chimiquement très voisins de l'acide picrique et donc ne peuvent être séparés à l'état pur, que par les méthodes chromatographiques ou électrophorétiques. Par ces méthodes une séparation n'est cependant possible que si la substance est stable et si l'on dispose d'une quantité assez grande pour négliger les impuretés du papier.

Les résultats obtenus par les chromatogrammes suggèrent toutefois des structures possibles.

### Rapport entre la structure chimique et la valeur du $R_F$

En chromatographie de partage le $R_F$ dépend directement du coefficient de partage $\alpha$ ; cette valeur est spécifique

d'une substance donnée. On a la relation :

$$R_F = \frac{A_L}{A_L + \alpha A_S}$$

$\alpha$ coefficient de partage : $\frac{\text{concentration solution aqueuse}}{\text{concentration solution organique}}$

$A_S$ est la surface de la section droite occupée par la phase stationnaire.

$A_L$ surface de la section de droite occupée par la phase mobile.

$$R_F = \frac{\text{distance parcourue par le centre de la zone}}{\text{distance parcourue par le front du liquide}}$$

Bate, Smith & Westall (4) se servent du $R_M$ défini par la relation :

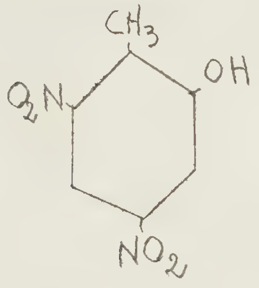
$$R_M = \log \frac{1}{R_F} - 1$$

Pour les corps aliphatiques : acides gras et leurs dérivés, le $R_M$ croît avec l'augmentation du nombre des atomes de carbone. Par chromatographie sur papier des acides aminés on met en évidence une relation entre la structure chimique et le coefficient de partage, et une régularité dans la position des différentes zones (56).

Pour les corps aromatiques, la relation simple ci-dessus n'est pas toujours applicable ; le premier travail de Bate, Smith & Westall a déjà montré que pour les polyphénols

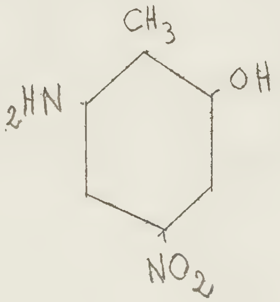
la valeur des $R_M$ augmente d'une façon linéaire avec le nombre des OH de la molécule, mais plusieurs auteurs et notamment Franc (24) démontrent que les fonctions des valeurs des $R_M$ ne sont certainement pas additives, comme pour les corps aliphatiques. Cependant la comparaison de $\Delta R_F$ au lieu de $\Delta R_M$, pour chaque fonction, donne souvent des résultats intéressants, comme le montre les résultats de C. Kikal & J.N. Smith (32).

Ces auteurs séparent, à l'aide du solvant : benzène-butanol concentré-ammoniauqe, dans les proportions 2/5/2, les composés suivants :




$R_F$ = 0,75

4.6.dinitro.o.crésol




$R_F$ = 0,25

4.nitro.6.amino.o.crésol

$\Delta R_F$ = 0,50

On voit que la substitution d'un $NO_2$ par un $NH_2$ en position 6 abaisse le $R_F$ de 0,5.

Le travail extensif de Reio (58) avec quelques centaines de phénols substitués, prouve aussi que l'on peut admettre

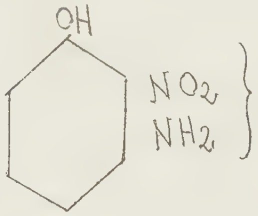
l'additivité des fonctions des $R_F$. Si l'on compare les chromatogrammes obtenus avec le solvant butanol-ammoniaque, avec des dérivés nitrés et aminés du phénol, on obtient les $R_F$ mentionnés dans le tableau VI.

Ce tableau montre :

1°) que la substitution d'un $NO_2$ par un $NH_2$ réduit la valeur du $R_F$ de 0,16 ; la substitution d'un $NO_2$ par un $NH_2$ dans le 2.4.dinitrophénol donne le même effet. $\Delta R_F$ = 0,2.

2°) que la substitution d'un $NO_2$ par un H provoque un abaissement de $R_F$ de 0,1 à 0,15. (Tableau VII).

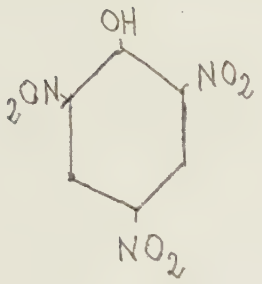
Si nous considérons la structure du composé $R_F$ = 0,40, l'abaissement de la valeur de $R_F$, $\Delta R_F$ = 0,25 est plus grande que dans le cas d'une substitution d'un $NO_2$ par un $NH_2$ ou d'un $NO_2$ par un H. Le spectre de la substance (fig. 28) ressemble beaucoup à l'acide picramique qui suppose la présence d'un groupement OH. La couleur jaune du composé suppose l'existence d'un groupement $NO_2$ .

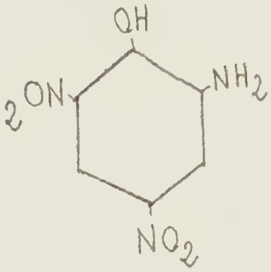



Composé de $R_F$ = 0,13. C'est ce composé qui change de couleur avec les variations de pH ; il est jaune en milieu acide, rouge en milieu neutre, violet en milieu alcalin.

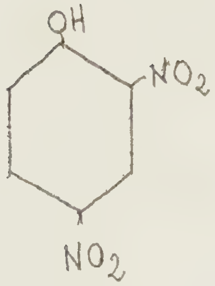
## TABLEAU VII

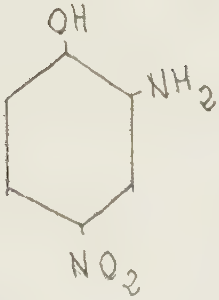
**1er cas** : substitution d'un $NO_2$ par un $NH_2$





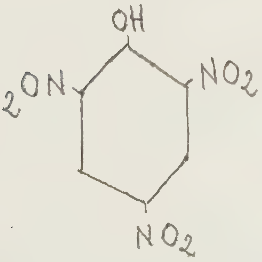
$R_F = 0,65$ $R_F = 0,49$ $R_F = 0,13$

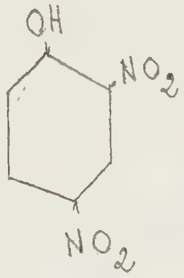




$R_F = 0,55$ $R_F = 0,35$ $R_F = 0,20$

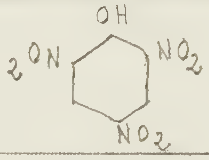
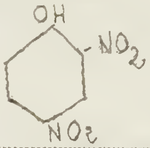
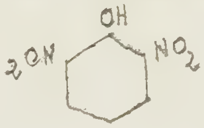
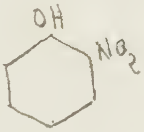
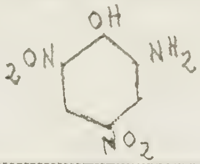
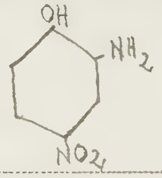
**2ème cas** : substitution d'un $ND_2$ par un H





$R_F = 0,65$ $R_F = 0,55$ $R_F = 0,10$

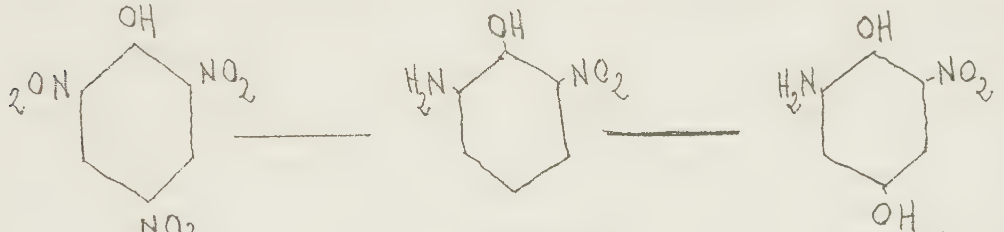
## TABLEAU VI

| Composés | $R_F$ | formule |
|---|---|---|
| 2.4.6.trinitrophénol (acide picrique) | 0.65 |  |
| 22.4.dinitrophénol | 0.55 |  |
| 2.6.dinitrophénol | 0.50 |  |
| O.nitrophénol | 0.51 |  |
| P.nitrophénol | 0.56 | |
| 2.amino.4.6.dinitrophénol (acide picramique) | 0.40 |  |
| Composé à identifier | 0.40 | |
| 2.amino.4.nitrophénol | 0.35 |  |
| Composé à identifier | 0.13 | |
| Composé à identifier | 0. | |

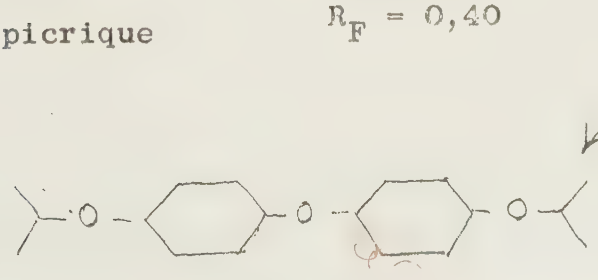
Nous mettons en évidence, d'après des irradiations à doses variables que ce composé est formé à partir de la substance précédente ($R_F$ = 0,40). Sa valeur de $R_F$ est plus basse ce qui suggère fortement qu'il contient davantage de groupements OH ou $NH_2$, ou moins de groupements $NO_2$ .

Il est possible que ce soit un composé avec 2 OH.

<u>Composé de $R_F$</u> = 0. Il se présente comme une tache brune et se trouve dans la plupart des produits fournis par l'irradiation de composés aromatiques hydroxyles ou aminés et est probablement un polymère polyhydroxyle (quinone polymérisé). Son comportement chromatographique suggère donc des réactions conduisant à la formation de molécules contenant encore plus de groupes $NH_2$ ou OH, c'est-à-dire correspondant à une réduction de la substance. On peut supposer les composés :



acide picrique — Composé $R_F$ = 0,40 — Composé $R_F$ = 0,13



Composé $R_F \neq 0$

## CONCLUSION

Les solutions de matières colorées considérées dans ce travail montrent, quel que soit leur groupe chimique, des modifications de leur couleur initiale, sous l'effet de divers rayonnements ionisants. Ces modifications, appréciées par photométrie, sont de trois types.

Courbes du premier type. On observe une augmentation de la couleur, c'est-à-dire de l'absorption dès le début de l'irradiation ; cette coloration passe par un maximum, puis diminue jusqu'à décoloration totale. C'est le cas de l'éosine de l'acide picrique, de l'uranine S.

Courbes du deuxième type. Elles se traduisent par une décoloration au début de l'irradiation, suivie d'une recoloration, puis d'une nouvelle décroissance de l'absorption jusqu'à décoloration totale. C'est le cas de l'hélianthine.

Courbes du troisième type. Elles se caractérisent par une décoloration continue, d'abord lente, qui augmente brusquement et qui ralentit de nouveau, pour des doses élevées, avant d'arriver à la décoloration totale. C'est le cas du pourpre de bromocrésol.

Certains colorants tels que l'uranine S et l'éosinate de sodium, émettent un rayonnement de fluorescence qui est également modifié par l'action du rayonnement. Les phénomènes

liés, les uns à l'absorption lumineuse, les autres à la fluorescence, suivant des lois de variations analogues et sont sensibles à la concentration initiale en substance dissoute.

a) cas des solutions diluées (5 à 35 µg/cm3)

Les courbes représentant l'évolution de l'absorption et de fluorescence de solutions diluées irradiées, en fonction de la dose, suivent la fonction exponentielle :

$$C = C_o e^{-kw}$$

$C_o$ et C représentent respectivement la concentration initiale et la concentration restante après une dose w absorbée par la solution.

Lorsque cette loi est vérifiée on observe une décoloration de la solution et une inhibition de sa fluorescence. Nous avons mis en évidence l'existence d'une concentration limite ($C_L$) à partir de laquelle cette loi exponentielle n'est plus vérifiée. Ceci est dû au fait qu'en solution plus concentrée les réactions de formation de nouveaux composés colorés deviennent plus importantes.

Cas des solutions concentrées.

Par l'irradiation, ces solutions modifient leur couleur; les spectres d'absorption et les chromatogrammes montrent que cet effet de coloration est dû à la formation de plusieurs composés colorés, produits d'irradiation.

L'inhibition de la fluorescence par le rayonnement paraît, dans ce cas, correspondre à la superposition de deux processus, l'un correspondant à une action chimique, (disparition et transformation chimique), et, l'autre, à un effet physique de désactivation entre la molécule fluorescente et l'un des composés présents en solution. (désactivation par induction sélective).

<u>Effet prolongé</u>. Les solutions d'éosinate de sodium aérées présentent une évolution de couleur après l'irradiation. Cette évolution se traduit par une modification de l'absorption et de la fluorescence. Ces deux effets peuvent se résumer de la façon suivante :

Le premier se traduit par une augmentation rapide de la densité optique pendant environ 30 minutes et peut conduire à une augmentation de 28 % de la densité optique obtenue à la fin de l'irradiation. Nous avons mis en évidence, dans ces solutions irradiées, des peroxydes organiques pouvant être à l'origine de cet effet prolongé.

Le maximum de coloration atteint, il s'amorçe une décoloration dûe à l'instabilité des corps formés, qui disparaissent progressivement de la solution, pour ne laisser, finalement que la substance de départ, non transformée. Les mesures de densité optique, ainsi que les chromatogrammes

ont permis de suivre ce phénomène.

Le deuxième effet, c'est-à-dire l'effet prolongé fluorescence, correspond à l'augmentation, dans une certaine proportion, du pouvoir fluorescent de la solution irradiée parallèlement à la décoloration.

Etude spectrophotométrique. Elle peut se résumer ainsi :

1°) La concentration du colorant initial diminue au cours de l'irradiation.

2°) Il y a formation de no velles substances colorées que les techniques chromatographiques sur papier ont permis de séparer. Les solvants retenus ont été :

- butanol n-ammoniaque 10 %,
- solution à 20 % de chlorure de potassium,

et la combinaison des deux pour la chromatographie bidimensionnelle ; celle-ci a permis, dans le cas de l'acide picrique, d'améliorer la séparation et d'isoler six nouveaux composés colorés. Deux de ces composés ont la propriété de modifier leur couleur avec le pH.

3°) La comparaison des spectres des constituants ainsi isolés a montré, pour les solutions d'acide picrique, que ces composés colorés possèdent un spectre d'absorption décalé vers la droite ou la gauche par rapport au maximum d'absorption de la solution témoin. La présence de ces composés dans la solution irradiée provoque une absorption plus importante vers des longueurs d'ondes plus grandes ou plus petites, par rapport au maximum d'absorption de la solution non irradiée. L'influence de la dose absorbée par la solution, sur l'importance de ces effets dépend de la nature et

de la concentration des corps présents en solution.

4°) Après séparations chromatographiques des solutions d'acide picrique concentrées, irradiées, nous avons déterminé le rendement initial de disparition, en présence d'oxygène, en fonction de la concentration initiale. Ce rendement croît rapidement jusqu'à une concentration de $4.10^{-4}$M, puis tend vers une valeur constante ($G_{i\ (D)}$ est de l'ordre de 2,15). Dans les solutions irradiées de ce colorant, nous avons décelé et dosé les ions $NO_2^-$ formés pendant l'irradiation. Pour une solution d'acide picrique de concentration $4.10^{-4}$M on trouve un $G_{i\ (NO_2^-)} \simeq 2,15$ ; il y a donc très probablement perte d'un d'un $NO_2$ par la molécule d'acide picrique. Les composés formés paraissent chimiquement voisins de la molécule initiale et les chromatogrammes obtenus par chromatographie de partage suggèrent des structures chimiques possibles. Les réactions envisagées correspondent à la perte d'un groupement $NO_2$, à la réduction d'un $NO_2$ en $NH_2$, à la fixation d'un second OH, et à la formation d'un polymère (quinone polymérisée).

Cette étude de l'action chimique des radiations ionisantes sur des solutions aqueuses de substances colorées, montre que la décoloration n'est pas l'unique phénomène à considérer. Elle dévoile un aspect constructif de l'irradiation par la formation d'un certain nombre de dérivés colorés, produits de réduction ou d'oxydation, voisins de la molécule initiale, dont certains peuvent, dans le cas de solutions fluorescentes, agir comme inhibiteurs de fluorescence.

# B I B L I O G R A P H I E


I ALLEN A.O. Disc.Far.Soc. 1952, 12, 86

2 ALLEN A.O. Rad.Research 1952, 1, 85

3 ANTA M.C., RODA SANTOS M.L., and PAIAS M.A. A/Conf.15/ P.1826 Portugal, 2 June, 1958.

4 BATE-SMITH E.C., and WESTALL R.G. Biochim.Biophys.Acta, 1950, 4, 427

5 BONET-MAURY P. C.R.Acad.Sc. 1944, 218, 127

6 BONET-MAURY P. Bull.Soc.Chim.France, 1951, 18, 133

7 BONET-MAURY P. Disc.Far.Soc. 1952, 12, 72

8 BOUTARIC A., MARAUX C. C.R.Soc.Biol. 1948, 142, 716

9 CLARK G.L. & FITCH K.R. Radiology, 1931, 17, 285

10 COLLINSON Disc.Far.Soc. 1952, 12, 285

11 COLWELL H.A. Lancet, 1932, 222, 932

12 CONSDEN R., GORDON A.H. & MARTIN A.J.P. Bioch.J. 1944, 38, 224

13 COTTIN M. & LEFORT M. J.Chim.Phys. 1956, 53, 267

14 DAINTON F.S. & COLLINSON An.Rev.Phys.Chem. 1951, 2, 99

15 DALE W.M., DAVIES J.V. & GILBERT C.W. Nature, 1950, 166, 1.121

16 DAY M.J. & STEIN J. Nature, 1950, 166, 146

17 DAY M.J. & STEIN J. Nature, 1951, 168, 146

18 DAY M.J. & STEIN J. Nature, 1951, 168, 644

19 DAY M.J. & STEIN J. Disc.Far.Soc., 1952, 12, 280

20 DELASSUS Chaleur & Industrie, 1949, Juillet, 288

21 DUBOULOZ, MONGE & FONDARI J.Soc.Chim.Fr. 1952

22 EVANS E. & WALLS K.W. J.Bact. 1952, 63, 422

23 FRAGLEN G.T. Nature, 1955, 175, 134

24 FRANC (sous presse)

25 FRICKE H., HART E.J., & SMITH H.P. J.Chem.Phys., 1938, 6, 229

26 FRICKE H., HART E.J., J.Chem.Phys. 1953, 3, 60

27 GERMUTH J.G. Ind.Eng.Ann.Ed. 1946, 18, 96

28 HAISSINSKY M. Reun.Ann.Soc.Chim.Phys. 1955

29 HENLEY E.I. Nucleonics, 1954, 12, 62

30 HOCHANADEL C.J. J.Physc.Chem. 1952, 56, 587

31 HOUGH L., JONES J.K.N., and WADMAN W.H. J.Chem.Soc. 1949, p. 2.511

32 KIKAL C. & SMITH J.N. Biochem.J. 1959, 71, 48

33 LAFFITE E. J.Phys.& Radium, 1952, 13, 148

34 LEDERER M. Science, 1950, 112, 504

35 LEDERER M. Anal.Chim.Acta, 1952, 6, 267

36 LEDERER M. Paper Electrophoresis. Editeur Elsevier, 1955

37 LEFORT M. Thèse J.Chim.Phys. 1950, 47, 7-8

38 LEFORT M. J.Chim.Phys. 1950, 47, 782

39 LEFORT M. & PUCHEAULT J. J.Chim.Phys. 1953, 50, 580

40 LINDER, LIECHTI Radiology Clinic, 1949, 18, 108

41 LOISELEUR J. Ann.Inst.Pasteur, 1953, 84, 1.001

42 LOISELEUR J. & SAUVAGE M. C.R.Acad.Sc. 1953, 237, 204

43 MARILNY GRACE ALDER & EYRING Henry Nucleonics, 1952, Avril , 54

44 MARTIN A.J.P. & SYNGE R.L.M. Bioch.J. 1941, 35, 358

45 MERZ & WATERS J.Chem.Soc. 1949, 2, 427

46 MILLER D & WILKINSON J. Disc.Far.Soc. 1952, 12, 50

47 MONGINI & ZIMMER J.Chim.Phys., 1953, 491

48 MUEL B. & HUBART-HABART M. J.Chim.Phys. 1958, p.377

49 NORMAN R.TODD & WHITCHER S.L. Atomic Energie Projet
Contrat n° ATO 41, (G.E.N.)

50 PATTI F. J.Chim.Phys. 1955, n° 1, 52, 38

51 PATTI F. J.Chim.Phys. 1955, n° 1, 52, 77

52 PATTI F. C.R.Acad.Sc. 1956, 242, 357

53 PERRIN F. C.R.Acad.Sc. 1927, 184, 1.121

54 PIFFAULT C., C.R.Soc.Biol. 1939, 43, 180

55 PIFFAULT C., BLANQUAT P. & DUHAMEL J. J.Phys.& Radium
1952, 13, 135

56 POLSON A. Biochem.Biophys.Acta, 1949, 3, 205

57 PROTOR B.E. And GOLBLITH S.A. Nucleonics, 1951, 27

58 REIO L. J.of.Chromato. 1958, 1, 338

59 SAENZ-LASCANO-RUIZ I., CHOVIN P. & MOUREU H.
Act.Scient.& Indus. Hermann Editeur,Paris, 1948,
n° 1.046

60 SEITZ Strahlentherapie, 1938, 61, 140

61 STEIN J. & DAY M.J. Nucleonics, 1951, 8, 2, 34

62 STEIN J. Disc.Far.Soc. 1952, 12, 229

63 STENTROM W. & LOHMANN A. Radiology 1931, 16, 322

64 SYNGE R.L.M. Analyst. 1946, 71, 256

65 WEISS J. Trans.Far.Soc. 1941,37, 463

66 WEISS J. Nature, 1944, 153, 748

67 WEISS J. Journ.Chim.Phys. 1951, 5-6, 233

68 WINCKLER Ber.Chem.Ges. 1882, 21, 2.853

69 ZAHN H. Textil Praxis. 1951, 6, 127

## TABLE DES MATIERES

pages

I.- INTRODUCTION

II.- TECHNIQUES EXPERIMENTALES

1°) Sources de rayonnement 9

Dosimétrie des sources

2°) Préparation des solutions 11

3°) Analyse des solutions irradiées 13

a) photométrie
b) fluorescence
c) séparation des substances colorées par chromatographie
d) électrophorèse sur papier

4°) Dosage des peroxydes 20

III.- EVOLUTION DE LA COULEUR

1°) Type des courbes photométriques 21

a) effet de la concentration initiale
b) influence de la nature du corps initial

2°) Etude des courbes du type I 26

A.- Etude de l'effet prolongé 27

a) évolution du phénomène lié à la couleur
b) dosage des peroxydes

B.- Etude spectrophotométrique des solutions 30

Pages

IV.- EVOLUTION DE LA FLUORESCENCE

Théorie quantique de la fluorescence 32

Résultats 36

V.- SEPARATIONS

Résultats de chromatographie 42

Résultats d'électrophorèse 44

VI.- ETUDE DE L'ACIDE PICRIQUE

A.- Etude des séparations 46

B.- Influence du pH 48

C.- Disparition de l'acide picrique 51

D.- Etude des composés colorés formés 55

VII.- ESSAIS D'IDENTIFICATION 56

CONCLUSION 63

D E U X I E M E   T H E S E

------

PROPOSITIONS DONNEES PAR LA FACULTE

" Les protecteurs chimiques
contre les rayons X et gamma".

---

Vu et approuvé

Paris, le 22 Novembre 1959

Le Doyen de la Faculté des Sciences

J. PERES

Vu
et Permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie
de Paris,

Jean SARRAILH